

研究報告

納豆製造過程における成分変化 (第1報) —アミノ態窒素, アンモニア態窒素, 糖, ビタミン B₂ について—

池田 ひろ*, 津野 貞子**

The Componential Changes During the Manufacturing
Process of Natto (Part 1)
—On the Amino Nitrogen, Ammonia Nitrogen,
Carbohydrates and Vitamin B₂—

Hiro Ikeda, Sadako Tsuno

I. 緒 言

納豆は約1000年前に東北地方で偶然発見されたと言われているわが国独特の大豆発酵食品で、蒸煮大豆に納豆菌を殖えつけ一定条件のもとで発酵熟成させた特有の風味と曳糸性のある粘質物をもつ食品である。納豆の製造過程中的変化や粘質物などについては多くの報告¹⁻⁹⁾ がなされている。また納豆菌は数種類の加水分解酵素を生産するが、その中で最も納豆の発酵熟成に関与する酵素はタンパク質分解酵素であり、この酵素によってタンパク質はペプチドやアミノ酸にまで分解され納豆の旨味や消化性に影響を与えていると言われている。

納豆に使用する大豆には中粒と小粒があり、一般には小粒大豆を使用した納豆が好まれているがその理由は明らかでなく、小粒大豆の方が吸水率が高い、蒸煮が容易である、製造の歩留りがよい、食べやすいなどがその特徴としてあげられている程度である。そこで大豆の形態の違いが発酵過程中的成分の変化や製品の出来上り時間などに影響を与えるのではないかと考え、粉末大豆で納豆を製造し、短時間で栄養価値の高い食

品として利用出来るかどうかを知るため検討を行うことにした。今回はその第一段階として旨味、香味、栄養的価値に関連の深いアミノ態窒素、アンモニア態窒素、糖、ビタミン B₂ の各成分について丸大豆使用納豆と比較し検討を行ったのでその結果を報告する。

II. 実験方法

1. 試料の調製

納豆菌：宮城野納豆製造所で純粋培養された *Bacillus natto* を使用した。

原料：丸大豆はアメリカ産のものを使用し、粉末大豆は同大豆を -196°C で瞬間凍結粉碎したものを使用した。

納豆の製造：丸大豆は $15\sim 20^{\circ}\text{C}$ で12~16時間水に浸漬後 1.8 kg/cm^2 で30分間煮熟し、50 g を秤取（以下0時間発酵と記す）したのち原料の1%の納豆菌を接種する。（納豆菌はあらかじめ20倍に希釈し、孢子の発芽をすみやかに行うよう 100°C で3分間加熱し直ちに室温にまで冷却しておく。）接種後50 g ずつ容器に秤取し、温度 40°C 、湿度80%に設定した恒温恒室器中で20時間発酵させ、その間2時間毎にとり出しこれを発酵2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20時間試料とした。粉末大豆は原料の1.5倍の水を散布後1時

*京都女子大学食物学科調理学第1研究室

**日本生活医学研究所

間室温に放置し充分吸水させたのちよく混合してペースト状にし、 18 kg/cm^2 で30分間蒸煮したのち丸大豆と同様に行い試料とした。

2. 実験方法

各試料は乳鉢で充分にすりつぶしペースト状にしたのち以下の測定に使用した。

- 1) 総窒素：セミマイクロケルダール法¹⁰⁾で行った。
- 2) アミノ態窒素：試料5gに0.1M-NaCl溶液20mlを加え2時間冷浸後、遠心分離して上澄液をとり、残渣に0.1M-NaCl溶液を加えて同様にして洗い、これをさらに2回くり返して先液とあわせて煮沸、濾過し蒸留水で200mlに定容したものを検液としてホルモール滴定法¹¹⁾でホルモール態窒素を定量し、アンモニア態窒素量をさし引いた値をアミノ態窒素量とした。
- 3) アンモニア態窒素：試料1gを10倍容の蒸留水で浸出後20%濃度になるようトリクロル酢酸を加えて除タンパクしたのち50mlに定容し、Conwayの微量拡散法¹²⁾により測定した。
- 4) 糖：試料を3N-HCLで3時間加水分解後、Somogyi-Nelson法で測定を行ったものを全糖とし、加水分解せずに同法で測定を行った値を還元糖とし、全糖より還元糖をさし引いた値を非還元糖とした。
- 5) ビタミンB₂：試料5gに0.1N-H₂SO₄60mlを加えてよく攪拌後、沸騰湯浴中で15分間加熱し冷却する。冷却後pH4.5に調整し、2%のタカジャスターゼ液を加えて37°Cに一夜放置後室温に冷却し蒸留水で定容後、遠沈上澄液を濾過したものを検液としてルミフラビン法¹³⁾で定量を行った。
- 6) 水分：赤外線電子水分計で測定した。

III. 結果及び考察

総窒素、アミノ態窒素、アンモニア態窒素、糖、ビタミンB₂についての分析結果は乾物100g当りの百分率で示した。

1) 総窒素の変化：表1に示したように丸大豆、粉末大豆ともに極く微量であるが増加した。この結果は草野²⁾、林¹³⁾らの報告と同傾向であったがその理由は明らかでない。

2) アミノ態窒素の変化：結果を図1に示した。丸大豆では発酵4時間までほとんど変化がなく6時間から増加が始まり、12時間で0時間の7.6倍、20時間では約12倍となる。粉末大豆では発酵2時間で増加し始め、6～8時間で最も著しく増加し、14時間で12倍、18時間で約15倍となった。プロテアーゼによるタンパク質の水解の開始時間は丸大豆より粉末大豆の方が速く、また発酵20時間のアミノ態窒素量も多い結果であった。

3) アンモニア態窒素とpHの変化：結果を図2に示したように丸大豆のアンモニア態窒素は発酵6時間まで変化がみられず、8時間以後徐々に増加し20時間で0時間の約14倍となった。pHは発酵8時間までわずかに上昇するがその後アンモニア態窒素の増加とともに著しく上昇した。粉末大豆のアンモニア態窒素は発酵4時間まで変化がみられず8時間までは徐々に、8時間以後は急激に増加し、20時間後には0時間の約50倍もの増加率を示した。またpHもアンモニア態窒素の増加とともに上昇し、20時間ではpH8.16となりアンモニア臭の強い製品となった。アンモニア態窒素の増加及びpHの上昇開始時間も丸大豆より粉末大

表1 製造過程中の成分変化

発酵 時間	水 分 (%)		固 形 分 (%)		総 窒 素* (%)	
	丸大豆	粉末大豆	丸大豆	粉末大豆	丸大豆	粉末大豆
0	59.59	66.34	40.41	33.66	7.35	7.44
2	62.63	69.55	37.37	30.45	7.24	7.88
4	63.10	69.49	36.90	30.51	7.61	7.45
6	61.90	70.70	38.10	29.30	7.42	7.59
8	62.29	71.19	37.71	28.81	7.49	7.55
10	63.29	71.06	36.71	28.94	7.41	7.50
12	60.73	69.70	39.27	30.30	7.87	7.60
14	62.10	70.76	37.90	29.24	7.70	8.11
16	61.57	72.11	38.43	27.89	7.74	8.31
18	62.71	70.84	37.29	29.16	7.72	8.21
20	63.25	71.82	36.75	28.18	8.00	8.14

* 乾物100g当り

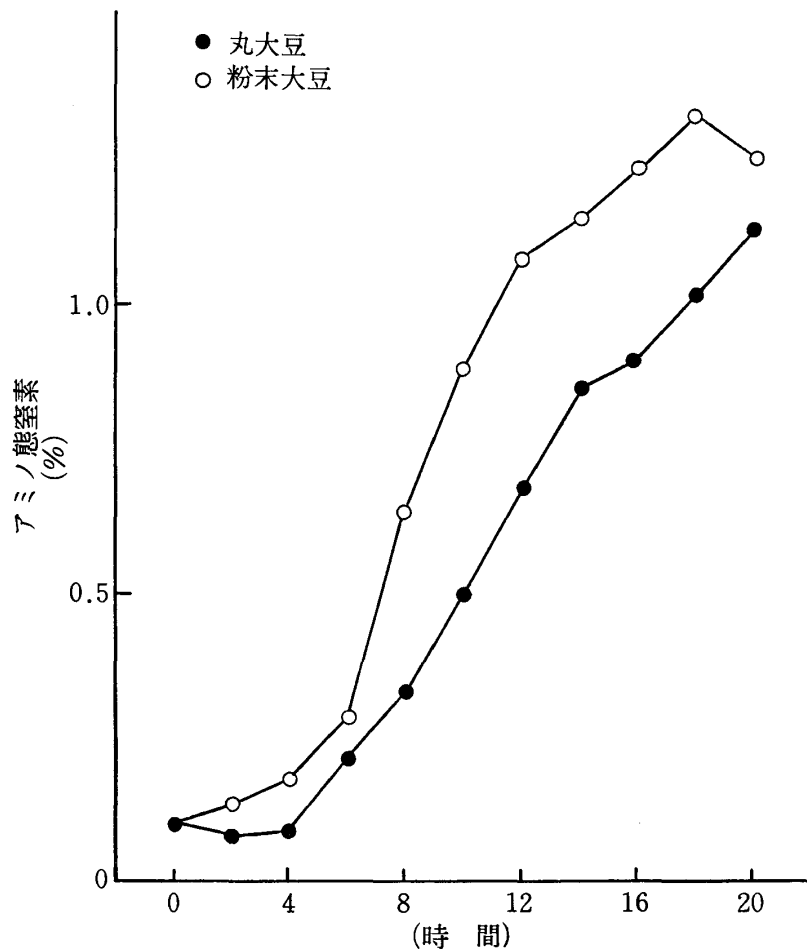


図1 製造過程中的のアミノ態窒素の変化

豆の方が速く、またアンモニア態窒素はタンパク質の水解より約2時間後に生成されるものと考えられる。

4) 糖の変化：糖の変化を表2に示した。また発酵中にエネルギー源として消費される糖は主にショ糖と考えられるため、非還元糖の減少率を図3に示した。非還元糖の減少は、丸大豆では発酵4時間から始まり6～12時間の間が最も著しく、消費される糖の約70%がこの間に減少し、その後の減少は極くわずかであった。粉末大豆では発酵2時間から徐々に減少し、6～10時間の間に最も著しく、丸大豆同様消費された糖の約70%がこの間に減少している。発酵6時間ごろから粘質物がみられ、粘質物はグルタミン酸ポリペプチドとフラクタンとの混合物であると言われている^{5,6)} ところから発酵6～12時間の間にショ糖の大部分のグルコースがエネルギー源として消費され、フラクトースが重合してフラクタンとなりこの時間帯に粘質物の増加も著しくなるものと推察される。また発酵20時間後の丸大豆と粉末大豆を比較すると各々の非還元糖の消費量は約45%と59%であり、粉末大豆の方が高い消費量を示した。

5) ビタミン B₂ の変化：図4にみられるようにビタミン B₂ も丸大豆では発酵6時間から徐々に増加し20時間で約5.2倍となった。粉末大豆では発酵4時間から増加し始め6時間以後の増加は丸大豆より著しく、20時間で約6.2倍となった。ビタミン B₂ は菌体内に生合成されると言われており、粉末大豆の方が納豆菌の増殖が著しく速いと考えられる。

以上の結果よりアミノ態窒素やアンモニア態窒素、ビタミン B₂ の増加開始時間、糖をエネルギーとして消費し始める時間及びpHの上昇開始時間のいずれの場合も丸大豆より粉末大豆の方が2～4時間速く、また増加量も多く、粉末大豆の発酵14時間と丸大豆の発酵20時間の値がほぼ等しいことから、粉末大豆の納豆化は発酵14時間と推察される。これは粉末大豆の表面積が丸大豆より大きいため納豆菌の発芽や増殖、発酵などが速くおこり、そのためタンパク質の水解やアンモニアやビタミン B₂ の生成、糖の消費などが速くなるものと考えられる。さらにタンパク質の分解速度や程度などについては詳しく検討する必要がある。

また外観及び味を観察した結果では丸大豆、粉末大

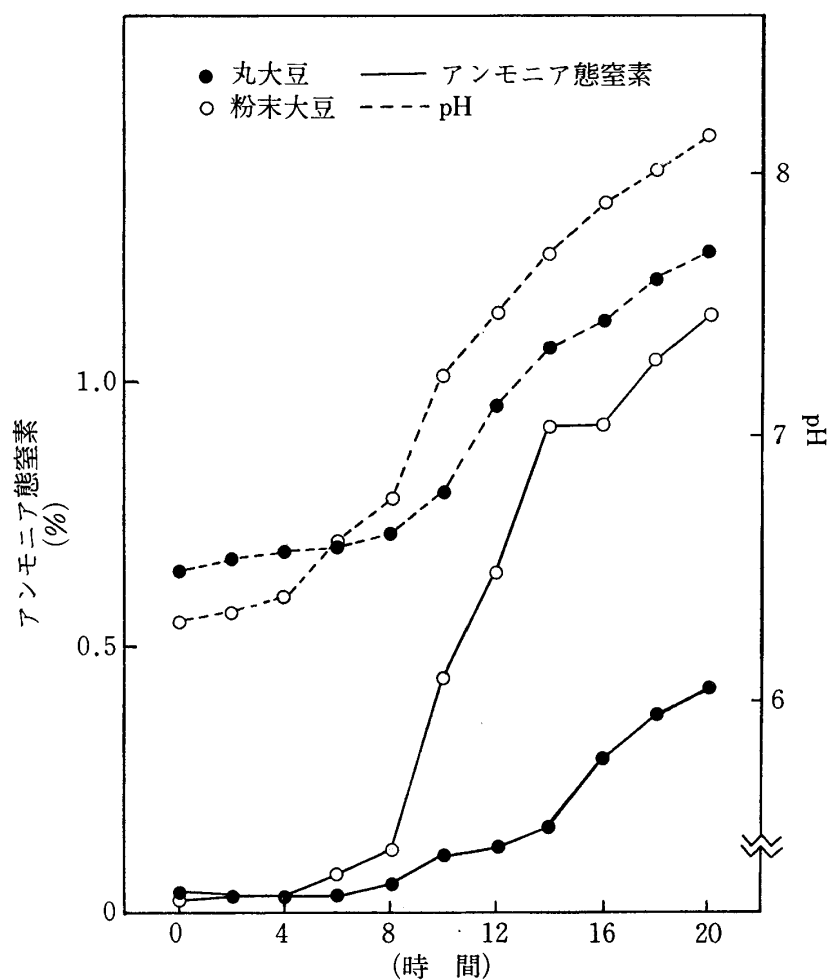


図2 製造過程中的アンモニア態窒素と pH の変化

表2 製造過程中的糖の変化*

発酵時間	全糖		還元糖		非還元糖	
	丸大豆	粉末大豆	丸大豆	粉末大豆	丸大豆	粉末大豆
0	8.88	10.50	1.42	1.80	7.46	8.70
2	8.94	10.10	1.37	1.83	7.57	8.27
4	8.72	9.38	1.56	1.98	7.16	7.40
6	8.24	8.80	1.39	1.81	6.85	6.99
8	7.46	7.40	1.60	1.77	5.86	5.63
10	6.73	6.33	1.57	1.77	5.16	4.56
12	5.96	5.78	1.52	1.75	4.44	4.03
14	5.76	5.74	1.49	1.72	4.30	4.02
16	5.68	5.51	1.56	1.59	4.12	3.92
18	5.65	5.19	1.48	1.66	4.17	3.53
20	5.54	5.45	1.46	1.90	4.08	3.55

* 乾物 100 g 当り%

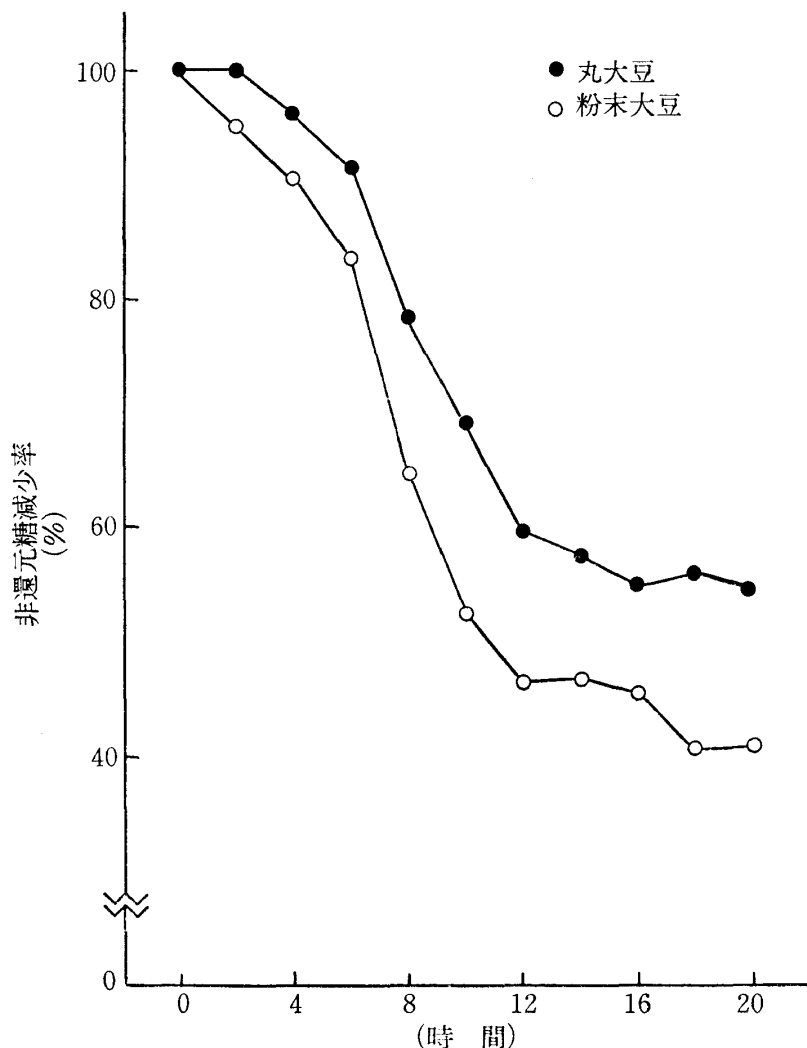


図3 製造過程中的非還元糖の変化

豆とも発酵6時間から粘質物が生成され始め、粉末大豆は発酵14時間で納豆のよい香りと旨味をもつが、発酵20時間ではアンモニア臭がつよく苦みを有し過発酵になったものと推察される。苦みとアンモニアの生成については高橋ら¹⁴⁾が納豆製造中の水分量が多く、発酵温度が高い場合に苦みを感じるアミノ酸の遊離度が高くなると報告している。従って粉末大豆に添加する水分量を変えることにより、短時間で良好な製品が得られることが考えられ、今後さらにこの点の検討が必要である。

IV. 要 約

大豆の形態の違いが納豆製造過程中的タンパク質の分解、アンモニアやビタミン B₂ の生成、糖の消費、成品の納豆化に要する時間などに影響を与えるかどうかを知るため、丸大豆と粉末大豆を使用して検討を行った結果は次のとおりである。

1) 総窒素：発酵時間の経過とともに丸大豆、粉末大豆ともにわずかであるが増加の傾向を示した。

2) アミノ態窒素：丸大豆のアミノ態窒素の増加は発酵6時間から始まり、20時間で約12倍となった。粉末大豆は発酵2時間から増加し、14時間で12倍、18時間で約15倍となった。

3) アンモニア態窒素：丸大豆では発酵8時間以後に増加し始め、20時間までに徐々に増加し約14倍となった。粉末大豆では発酵6時間から増加し20時間まで著しい増加を示した。また丸大豆、粉末大豆ともにアミノ態窒素の増加開始時間より約2時間遅れて生成が認められた。

4) pH：発酵20時間での pH は、丸大豆では7.72、粉末大豆で8.16であり、発酵過程中的アンモニア態窒素の増加と pH の上昇は同じ傾向を示した。

5) 糖：非還元糖の減少が著しく発酵20時間では丸大豆は45%、粉末大豆は59%が消費されていることが

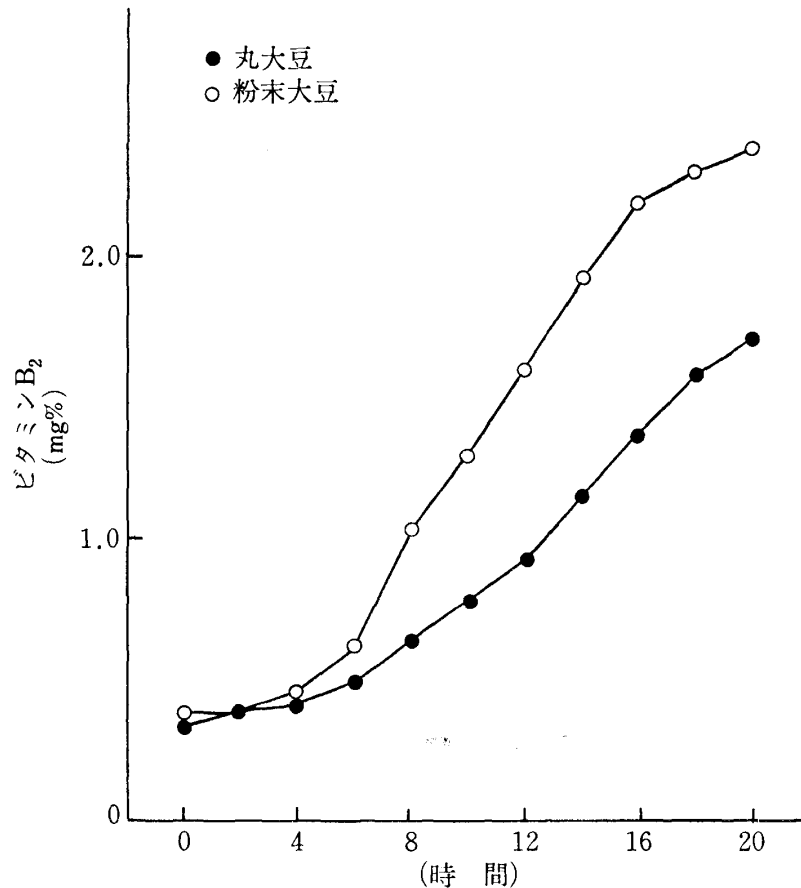


図4 製造過程中のビタミンB₂の変化

わかった。また消費された糖のうち約70%が6～12時間発酵の間に減少した。

6) ビタミンB₂: 丸大豆は発酵6時間から増加し始め20時間で5.2倍となり、粉末大豆では発酵4時間から増加し、14時間で5.2倍、20時間で6.2倍となった。

7) 以上の結果より形態の違いが納豆菌の繁殖に影響を与え、表面積の大きい粉末大豆の納豆化は14時間と推察された。

終りに実験に御協力いただいた斎藤みゆきさん、高橋邦子さん、試料大豆を御提供いただいた大阪ガス株式会社に深く感謝致します。

参 考 文 献

- 1) 伊丹賢吉, 加藤寿美夫: 栄養と食糧, 10, 206, (1957)
- 2) 草野愛子: 栄養と食糧, 22, 615, (1969)
- 3) 草野愛子: 栄養と食糧, 24, 8, (1971)
- 4) 太田, 海老根, 中野, 稗田, 佐々木: 食糧研究報告, 18, 46, (1963)
- 5) 藤井久雄: 農芸化学会誌, 37, 407, (1963)
- 6) 藤井久雄: 農芸化学会誌, 37, 474, (1963)
- 7) 林義男, 河靖信, 田口邦子: 京都府立大学学術報告, 22, 13, (1971)
- 8) 林右市: 国民衛生, 28, 574, (1959)
- 9) 林右市: 発酵工学雑誌, 37, 327, (1959)
- 10) 稲垣長典, 岡崎正一: 食品化学実験, 医歯薬出版 (1969)
- 11) 小原, 鈴木, 岩尾: 食品分析ハンドブック, 建帛社 (1982)
- 12) 石坂音治: 微量拡散分析法, 化学実験操作法続編 (IV) 南江堂
- 13) 林右市: 栄養と食糧, 4, 188, (1952)
- 14) 高橋慧, 島川武: 愛媛工誌報告, 14, 13, (1976)